谷氨酰胺及其前体物对松浦镜鲤组织抗氧化能力及血清生化指标的影响

宋芳杰[1,2]　王连生[2]　徐奇友[2*]

（1.南京农业大学无锡渔业学院，无锡 214182；2.中国水产科学研究院黑龙江水产研究所，哈尔滨 150070）

摘　要：本试验旨在探究谷氨酰胺及其前体物对松浦镜鲤幼鱼组织抗氧化能力及血清生化指标的影响。试验选用平均体重为（40.27±3.96） g 的松浦镜鲤幼鱼 1 050 尾，随机分成 7 个组，每组 5 个重复，每个重复 30 尾鱼。在基础饲料中分别添加 1.5%的葡萄糖（对照）、谷氨酰胺（Gln）、谷氨酸（Glu）、α-酮戊二酸（AKG）、*L*-鸟氨酸-α-酮戊二酸（OKG）、*L*-精氨酸-α-酮戊二酸（AAKG）、α-酮戊二酸钠（2Na-AKG），配制成等氮等能的 7 种配合饲料，分别投喂 7 组试验鱼。养殖试验为期 8 周。结果表明：肠道中，Gln 和 Glu 组超氧化物歧化酶（SOD）活性显著高于对照组（$P<0.05$），Gln 组谷胱甘肽（GSH）含量显著高于对照组（$P<0.05$），Glu、AKG、OKG 和 2Na-AKG 组丙二醛（MDA）含量显著低于对照组（$P<0.05$）；肝脏中，Gln 和 Glu 组 SOD 活性显著高于其他各组（$P<0.05$），GSH 含量各组间无显著差异（$P>0.05$），Gln、Glu、AKG、2Na-AKG 和 OKG 组 MDA 含量显著低于对照组（$P<0.05$）；血清中，OKG 和 2Na-AKG 组 SOD 活性显著高于对照组（$P<0.05$），2Na-AKG 组 GSH 含量显著低于对照组（$P<0.05$），MDA 含量各组间差异不显著（$P>0.05$）。与对照组相比，Gln、Glu、AKG 组血清总蛋白（TP）含量显著升高（$P<0.05$），2Na-AKG 组显著降低（$P<0.05$）；AAKG 组血清谷丙转氨酶(ALT)活性显著升高（$P<0.05$），OKG 和 2Na-AKG 组血清谷草转氨酶(AST)活性显著升高（$P<0.05$），AKG 组血清 AST 活性显著降低（$P<0.05$）；AAKG 组血清总胆固醇（TCHO）含量显著降低（$P<0.05$）；AKG 组血清葡萄糖含量显著降低（$P<0.05$）。综上所述，Gln 及其前体物对松浦镜鲤的组织抗氧化能力均有一定影响，从机体对脂质过氧化产物的清除能力看，以 Glu、AKG、OKG 和 2Na-AKG 的效果较佳；Gln、Glu 和 AKG 可提高机体的蛋白质利用率和免疫力，并且 AKG

收稿日期：2015-08-23

基金项目：中国水产科学研究院基本科研业务费资助（2014A08XK03）；国家大宗淡水鱼产业技术体系（CARS-46-16）

作者简介：宋芳杰（1989—），男，安徽宿州人，硕士研究生，研究方向为动物营养与饲料。E-mail: Jefsong@163.com

*通信作者：徐奇友，研究员，硕士生导师，E-mail: xuqiyou@sina.com

还可显著降低血清葡萄糖含量。

关键词：松浦镜鲤；谷氨酰胺；前体物；抗氧化能力；血清生化指标

中图分类号：S963　　　　文献标识码：A　　　　文章编号：

谷氨酰胺（glutamine,Gln）是动物血液中最丰富的氨基酸，是合成蛋白质、嘧啶和嘌呤核苷酸、烟酰胺腺嘌呤二核苷酸以及氨基糖的重要前体，并且是淋巴细胞等快速分裂细胞的主要能源物质，在其代谢过程中具有转氨和提供氮源的作用[1-3]。一般情况下，机体内 Gln 可以由外源添加以及内源合成，当机体受到应激或者处于病理状态时，内源合成量远不能满足机体所需，从而导致机体内 Gln 相对缺乏[4]。研究证实，饲料中添加 Gln 可以促进建鲤肠道发育，改善肠道结构及功能，并可有效防止过氧化氢对肠上皮细胞促发的氧化应激[5-6]。但是，外源添加的 Gln 极不稳定，受热易分解成有毒的焦谷氨酸和氨。徐奇友等[7]在饲料中添加 1.0%或 2.0% Gln 饲喂虹鳟，结果显示其绒毛直径、绒毛高度和黏膜厚度以及肠腺深度显著降低，可能因为 Gln 在外源添加过程中受到各种环境因子的影响，促使其产生焦谷氨酸和氨，从而对机体产生了不利的影响。基于 Gln 的缺陷，大量学者对其替代物做了深入的研究，主要以谷氨酰胺二肽为主，如 Brito 等[8]研究表明丙氨酰-谷氨酰胺（Ala-Gln）可抑制艰难梭菌毒素对肠上皮凋亡和损伤的诱导，Kim 等[9]利用 Ala-Gln 替代 Gln 促进猪卵母细胞体外成熟及胚胎发育。从代谢角度看，Gln 存在许多前体物，如 α-酮戊二酸（AKG）、谷氨酸（Glu）、*L*-鸟氨酸-α-酮戊二酸（OKG）、*L*-精氨酸-α-酮戊二酸（AAKG）、α-酮戊二酸钠（2Na-AKG）等。AKG 在生物体内三羧酸循环中是谷氨酸羧化脱氨的产物，可作为 Gln 的前体物合成 Gln，同时也具有载氮和储存氮的功能，并且在肠道生长发育方面与 Gln 具有同等重要的作用；Glu 是动物黏膜主要的能源物质之一，可作为 Gln 合成的前体，是与肠黏膜生长和代谢相关的重要氨基酸之一；OKG 可抑制细菌易位、促进小肠上皮细胞增殖和受损黏膜的修复，对维持蛋白质稳定有重要作用；AAKG 是一种精氨酸复盐，能够促进肝细胞对营养和能量的吸收，维护肝功能正常等作用；2Na-AKG 是一种能够为生物体提供 AKG 的有机中间体，在一定程度上可降低 AKG 的吸收速度，从而使得 AKG 有更多的时间向其他形式转化。李晋南等[10-11]研究表明，Gln 及其前体物（AKG、OKG、Glu）可以显著改善松浦镜鲤前肠淀粉酶和脂肪酶活性，与对照组相比，AKG 显著降低饵料系数且使增重率提高了 5.96%，其在肠道发育方面的影响也略优于其他替代物。魏玉强等[12]研究发现，饲料中

添加 AKG 能够提高松浦镜鲤肌肉中粗蛋白质含量，促进其对饲料中蛋白质的吸收及利用，提高鱼体蛋白质代谢水平。松浦镜鲤是利用德国镜鲤第 4 代选育系（F4）与散鳞镜鲤杂交后成功选育出的一个镜鲤新品种，相比于常规鲤鱼品种，其具有体形完好、含肉率高、生长速度快、养殖经济效益高等诸多优点。本试验从 Gln 前体物出发，甄选具有代表性的数种前体物，如 Glu、OKG、AAKG 和 2Na-AKG，探究 Gln 前体物对松浦镜鲤组织抗氧化能力以及血清生化指标的影响。

1 材料与方法

1.1 试验材料

L-Glu、*L*-Gln、OKG（*L*-鸟氨酸与 AKG 质量比为 1：1）、2Na-AKG、AAKG（*L*-精氨酸与 AKG 质量比为 2：1）均购自上海鼓臣生物技术有限公司，AKG 购自 Sigma 公司，纯度均≥98.0%；松浦镜鲤选自中国水产科学院黑龙江水产研究所。

1.2 试验设计与饲养管理

根据《鲤鱼配合饲料》（SC/T 1026-2002）以及 NRC（2011）要求，以鱼粉、豆粕为蛋白质源，以豆油、鱼油、磷脂为脂肪源，配制基础饲料。分别用 Gln、Glu、AKG、OKG、AAKG 及 2Na-AKG 替代基础饲料中的葡萄糖（基础饲料中葡萄糖添加量为 1.5%），配制成 6 种等氮等能的试验饲料。基础饲料组成及营养水平见表 1。饲料原料粉碎过 80 目筛，称重后将各原料逐级混合均匀，再加入一定量的水充分混匀后用小型颗粒机按照鱼种后期（体重 10~100 g）饲料要求，加工成粒径为 2 mm 的颗粒饲料，常温风干后于 4 ℃冰箱保存备用。

表 1 基础饲料组成及营养水平（干物质基础）

Table 1 Composition and nutrient levels of the basal diet (DM basis) %

项目	含量 Content
原料 Ingredients	
鱼粉 Fish meal	5.00
豆粕 Soybean meal	38.10
玉米淀粉 Corn starch	2.00
次粉 Wheat middling	43.40

鱼油 Fish oil	1.00
豆油 Soybean oil	3.30
磷脂 Phospholipid	1.00
维生素预混料 Vitamin premix [1)]	0.30
矿物质预混料 Mineral Premix[2)]	0.20
L-赖氨酸 *L*-Lys	0.54
L-蛋氨酸 *L*-Met	0.56
L-苏氨酸 *L*-Thr	0.43
氯化胆碱 Choline chloride	0.20
磷酸二氢钙 $Ca(H_2PO_4)_2$	2.47
葡萄糖 Glucose	1.50
合计 Total	100.00
营养水平 Nutrient levels[3)]	
粗蛋白质 CP	29.22
粗脂肪 EE	6.75
赖氨酸 Lys	2.20
蛋氨酸 Met	1.00
苏氨酸 Thr	1.50
总磷 TP	1.21

[1)]维生素预混料为每千克饲料提供 The vitamin premix provided the following per kg of the diet：VA 8 000 IU，VC 500 mg，VD_3 3 000 IU，VE 60 mg，VK_3 5 mg，VB_2 30 mg，VB_6 15 mg，VB_{12} 0.5 mg，氯化胆碱 choline chloride 5 000 mg，烟酸 nicotinic acid 175 mg，*D*-生物素 *D*-biotin 2.5 mg，肌醇 inositol 1 000 mg，叶酸 folic acid 5 mg，泛酸 pantothenic acid 50 mg。

[2)]矿物质预混料为每千克饲料提供 The mineral premix provided the following per kg of the diet：Zn 25 mg，Cu 3 mg，Fe 25 mg，Mn 15 mg，I 0.6 mg，Co 0.1 mg，Se 0.4 mg。

[3)]粗蛋白质和粗脂肪为实测值，其余为计算值。CP and EE were measured values, while the others were calculated values.

自中国水产科学院黑龙江水产研究所松浦试验站挑选出体格健壮、规格整齐的松浦镜鲤 3 000 尾。暂养并驯化 1 周，暂养期间饲喂基础饲料，1 周后从中再挑取 1 050 尾平均体重 (40.27±3.96) g 的松浦镜鲤，随机分成 7 组，每组 5 个重复，每个重复 30 尾。对照组饲喂基础饲料，6 个试验组随机饲喂 1 种试验饲料。试验鱼养殖于呼兰试验站车间的模块化组合式循环水养殖系统中，圆桶规格为直径 1.2 m、高 0.6 m，生物滤床水处理系统每小时处理水量 8~12 t，养殖水体 30 t，每日投喂 3 次（时间分别在 07:30、12:30、16:30），饱食投喂。养殖期为 8 周，定期清洗箱体，并保持每天换水 20%，维持水温在（25.0±2.0） ℃，溶氧浓度不低于 5.0 mg/L，氨氮浓度不高于 1.0 mg/L。

1.3 样品采集和指标测定

1.3.1 样品采集

养殖试验结束后将试验鱼饥饿 24 h 后采样。每缸随机取出 2 尾试验鱼用丁香油麻醉。待麻醉完全后，尾静脉采血，离心分离血清（3 500 r/min，15 min），取血清样品并立即置于-20 ℃冰箱保存待测。将采血后的使用鱼置于冰盘上解剖，分别取肝脏、肠道，用预冷的 0.86%生理盐水清洗肠道并用滤纸吸干。准确称取试验鱼各组织样品，与预冷的 0.86%生理盐水按 1：9 的比例（质量体积比）稀释，匀浆，按不同检测指标所需条件及试剂盒要求的速度和时间进行离心，离心后取组织上清液样品-20 ℃保存待测。

1.3.2 指标测定

血清、肝脏、肠道中丙二醛（MDA）含量、超氧化物歧化酶（SOD）活性、还原型谷胱甘肽（GSH）含量均采用南京建成生物工程研究所的试剂盒测定；血清生化指标采用全自动生化分析仪（贝克曼 ProCX4，德国）测定，包括总蛋白（TB）、白蛋白（ALB）、球蛋白（GLB）、葡萄糖、尿素氮（UN）、甘油三酯（TG）、总胆固醇（TCHO）含量及谷草转氨酶（AST）、谷丙转氨酶（ALT）活性。

1.4 统计分析

试验数据采用平均值±标准误表示，采用 SPSS 19.0 软件中的单因素方差分析(one-way ANOVA)对数据进行方差分析，并用 Duncan 氏法对数据进行显著性检验，差异显著性水平

设为 $P<0.05$。

2 结 果

2.1 Gln 及其前体物对松浦镜鲤组织抗氧化能力的影响

2.1.1 Gln 及其前体物对松浦镜鲤肠道抗氧化指标的影响

Gln 及其前体物对松浦镜鲤肠道抗氧化指标的影响见表 2，结果显示：Gln 与 Glu 组肠道 SOD 活性显著高于对照、OKG 和 2Na-AKG 组（$P<0.05$），其他各组间无显著差异（$P>0.05$）；Gln 组肠道 GSH 含量显著高于对照、AAKG 和 2Na-AKG 组（$P<0.05$），其他各组差异不显著（$P>0.05$）；2Na-AKG 和 OKG 组肠道 MDA 含量显著低于其他各组（$P<0.05$），同时 AKG、Gln 组肠道 MDA 含量显著低于对照组（$P<0.05$）。

表 2 Gln 及其前体物对松浦镜鲤肠道抗氧化指标的影响

Table 2 Effects of Gln and its precursors on antioxidant indices in intestine of *Songpu* mirror carp （n=8）

组别 Groups	超氧化物歧化酶 SOD/(U/mg prot)	谷胱甘肽 GSH/(mg/g prot)	丙二醛 MDA/(nmol/mg prot)
对照 Control	62.24±4.67[b]	17.76±2.06[b]	0.97±0.17[a]
谷氨酰胺 Gln	123.18±11.81[a]	54.85±6.81[a]	0.76±0.13[ab]
谷氨酸 Glu	113.61±16.91[a]	38.48±6.54[ab]	0.55±0.12[bc]
α-酮戊二酸 AKG	87.07±11.03[ab]	37.17±4.48[ab]	0.74±0.10[b]
L-鸟氨酸-α-酮戊二酸 OKG	53.34±8.80[b]	38.06±4.59[ab]	0.35±0.05[c]
L-精氨酸-α-酮戊二酸 AAKG	90.04±12.59[ab]	18.26±3.61[b]	0.76±0.10[ab]

α-酮戊二酸钠 2Na-AKG	64.76±7.67[b]	22.65±4.08[b]	0.23±0.04[c]

同列数据肩标无字母或相同字母表示差异不显著（*P*＞0.05），不同小写字母表示差异显著（*P*＜0.05）。表 3 和表 4 同。

In the same column, values with no letter or the same letter superscripts mean no significant difference (*P*＞0.05), while with different small letter superscripts mean significant difference (*P*＜0.05). The same as Table 3 and Table 4.

2.1.2　Gln 及其前体物对松浦镜鲤肝脏抗氧化指标的影响

Gln 及其前体物对松浦镜鲤肝脏抗氧化指标的影响见表 3，结果显示：Gln 和 Glu 组肝脏 SOD 活性显著高于其他各组（*P*＜0.05），其他各组间差异不显著（*P*＞0.05）；Glu 组肝脏 GSH 含量显著高于 AKG、OKG、AAKG 和 2Na-AKG 组（*P*＜0.05），其他各组间差异不显著（*P*＞0.05）；Gln、Glu、AKG、OKG 和 2Na-AKG 组肝脏 MDA 含量显著低于对照组（*P*＜0.05），AAKG 组与对照组相比差异不显著（*P*＞0.05）。

表 3　Gln 及其前体物对松浦镜鲤肝脏抗氧化指标的影响

Table 3　Effects of Gln and its precursors on antioxidant indices in liver of *Songpu* mirror carp （*n*=8）

组别 Groups	超氧化物歧化酶 SOD/(U/mg prot)	谷胱甘肽 GSH/(mg/g prot)	丙二醛 MDA/(nmol/mg prot)
对照 Control	564.24±23.73[b]	20.18±1.71[ab]	1.86±0.12[a]
谷氨酰胺 Gln	769.03±44.59[a]	17.91±2.76[ab]	1.27±0.13[bc]
谷氨酸 Glu	825.37±112.86[a]	30.96±3.46[a]	0.77±0.25[c]
α-酮戊二酸 AKG	518.05±41.23[b]	10.54±2.31[b]	1.24±0.15[bc]
L-鸟氨酸	455.72±36.86[b]	6.56±0.99[b]	0.75±0.09[c]

-α-酮戊二酸 OKG			
L-精氨酸-α-酮戊二酸 AAKG	583.32±37.14^{b}	9.78±1.64^{b}	1.65±0.24^{ab}
α-酮戊二酸钠 2Na-AKG	498.3±22.82^{b}	10.51±2.25^{b}	1.00±0.25^{c}

2.1.3 Gln 及其前体物对松浦镜鲤血清抗氧化指标的影响

Gln 及其前体物对松浦镜鲤血清抗氧化指标的影响见表 4，结果显示：OKG 和 2Na-AKG 组血清 SOD 活性显著高于对照组（P<0.05），其他各组间差异不显著（P>0.05）；2Na-AKG 组血清 GSH 含量显著低于对照、Gln、Glu、AKG 和 OKG 组（P<0.05），Gln 组 GSH 含量显著高于 AAKG 和 2Na-AKG 组(P<0.05)，其他各组间差异不显著（P>0.05）；血清中 MDA 含量各组间无显著差异（P>0.05）。

表 4　Gln 及其前体物对松浦镜鲤血清抗氧化指标的影响

Table 4　Effects of Gln and its precursors on antioxidant indices in serum of *Songpu* mirror carp（n=8）

组　别 Groups	超氧化物歧化酶 SOD/(U/mL)	谷胱甘肽 GSH/(mg/L)	丙二醛 MDA/(nmol/mL)
对照 Control	239.95±17.90^{c}	1.77±0.11^{ab}	15.31±0.80
谷氨酰胺 Gln	277.72±7.75^{abc}	2.28±0.14^{a}	14.20±2.50
谷氨酸 Glu	258.44±13.38^{abc}	1.92±0.18^{ab}	14.83±1.14
α-酮戊二酸 AKG	265.99±9.58^{abc}	1.75±0.20^{ab}	11.94±1.59

L-鸟氨酸-α-酮戊二酸 OKG	313.31±32.71[ab]	2.04±0.32[ab]	13.03±0.71
L-精氨酸-α-酮戊二酸 AAKG	249.29±16.73[bc]	1.49±0.19[bc]	13.46±1.25
α-酮戊二酸钠 2Na-AKG	323.45±33.60[a]	1.04±0.06[c]	11.52±2.63

2.2 Gln 及其前体物对松浦镜鲤血清生化指标的影响

Gln 及其前体物对松浦镜鲤血清生化指标的影响见表 5，结果显示：Gln、Glu 和 AKG 组血清 TP 含量显著高于其他各组（*P*＜0.05），以 2Na-AKG 组最低；Glu 组血清 ALB 含量显著高于其他各组（*P*＜0.05），其他各组间无显著差异（*P*＞0.05）；Gln、Glu 和 AKG 组血清 GLB 含量显著高于其他各组（*P*＜0.05），以 2Na-AKG 组最低；AAKG 组血清 ALT 活性显著高于其他各组（*P*＜0.05），其余各组间无显著差异（*P*＞0.05）；OKG 和 2Na-AKG 组血清 AST 活性显著高于其他各组（*P*＜0.05），以 AKG 组最低且显著低于其他各组（*P*＜0.05）；血清 TG 和 UN 含量各组间差异不显著（*P*＞0.05）；AAKG 组血清 TCHO 含量显著低于对照、Gln 和 Glu 组（*P*＜0.05），其他各组间差异不显著（*P*＞0.05）；血清葡萄糖含量以对照组最高，并显著高于 AKG 组（*P*＜0.05），其他各组间无显著差异（*P*＞0.05）。

表 5 Gln 及其前体物对松浦镜鲤血清生化指标的影响

Table 5 Effects of Gln and its precursors on serum biochemical indices of *Songpu* mirror carp （*n*=3）

项目 Items	组别 Groups						
	对照 Control	谷氨酰胺 Gln	谷氨酸 Glu	α-酮戊二酸 AKG	*L*-鸟氨酸-α-酮戊二酸 OKG	*L*-精氨酸-α-酮戊二酸 AAKG	α-酮戊二酸钠 2Na-AKG
总蛋白 TP/（g/L）	31.03±0.46[b]	34.60±0.35[a]	34.43±1.21[a]	34.00±0.38[a]	30.90±1.17[b]	30.10±1.15[b]	26.73±0.54[c]

白蛋白 ALB/(g/L)	3.03±0.12^{b}	3.20±0.05^{ab}	3.43±0.03^{a}	2.97±0.14^{b}	3.10±0.06^{ab}	3.00±0.2^{b}	2.97±0.12^{b}
球蛋白 GLB/(g/L)	28.00±0.46^{b}	31.53±0.46^{a}	31.00±1.20^{a}	31.00±0.41^{a}	27.80±1.20^{b}	27.43±1.30^{b}	23.77±0.62^{c}
谷丙转氨酶 ALT/(U/L)	4.00±0.58^{b}	3.67±0.33^{b}	2.33±0.33^{b}	3.00±0.58^{b}	4.00±0.58^{b}	6.00±0.58^{a}	4.00±0.58^{b}
谷草转氨酶 AST/(U/L)	139.00±4.73^{b}	122.67±7.22^{bc}	136.67±11.62^{b}	100.67±8.09^{c}	192.00±7.00^{a}	146.67±2.91^{b}	186.33±13.97^{a}
甘油三酯 TG/(mmol/L)	2.56±0.19	3.58±0.53	3.25±0.29	3.10±0.27	3.52±0.12	2.55±0.48	2.88±0.18
总胆固醇 TCHO/(mmol/L)	4.08±0.36^{a}	3.97±0.26^{a}	4.09±0.22^{a}	3.39±0.14^{ab}	3.57±0.12^{ab}	2.81±0.32^{b}	3.80±0.20^{a}
尿素氮 UN/(mmol/L)	1.57±0.22	1.23±0.12	1.27±0.15	1.37±0.27	1.17±0.22	1.23±0.22	1.20±0.06
葡萄糖 GLU/(mmol/L)	4.10±1.09^{a}	2.15±0.42^{ab}	2.24±0.28^{ab}	1.71±0.24^{b}	2.12±0.42^{ab}	3.53±0.94^{ab}	2.19±0.56^{ab}

同行数据肩标无字母或相同字母表示差异不显著（$P>0.05$），不同小写字母表示差异显著（$P<0.05$）。

In the same row, values with no letter or the same letter superscripts mean no significant difference ($P>0.05$), while with different small letter superscripts mean significant difference ($P<0.05$).

3 讨 论

3.1 Gln 及其前体物对松浦镜鲤组织抗氧化能力的影响

动物机体是一种动态平衡系统，正常情况下这种平衡非常稳定，当受到外界刺激或影响时，这种平衡就会受到干扰甚至被破坏。机体中氧化剂和抗氧化剂之间的平衡对维持生物大分子和细胞的功能是十分重要的，这种平衡受到任何干扰，细胞或组织都会受到一定的毒害，从而使得机体产生一定的应激反应，这种应激称为氧化应激[13]。Gln 对肠上皮抗氧化能力的影响主要是通过抗氧化酶系统和非酶系统来调节的[14]。本试验通过抗氧化酶 SOD 和非酶抗氧化物质 GSH 和 MDA 途径分别对松浦镜鲤的肠道、肝脏和血清抗氧化能力进行了测定。刘坚等[15]研究表明，机体 SOD 活性与机体脂质过氧化产物含量存在负相关关系。脂质过氧化终产物为 MDA，其对机体生物膜的结构可造成严重损伤，从而影响其正常功能，甚至会导致细胞凋亡[16]。GSH 由谷氨酸、甘氨酸和半胱氨酸组成，是机体内最主要且最丰富的含巯基低分子肽，其可与相关酶共同组成一道重要的抗自由基防线以保护机体蛋白质和脂质等

的结构成分不被氧化，而 Gln 可参与机体内 GSH 的合成，从而提高机体抗氧化能力[13-17]。陈瑾[14]研究表明，Gln 可抑制鲤鱼肠上皮细胞的脂质过氧化，并且可以提高机体对脂质过氧化产物的清除能力。李华涛[18]研究表明，饲料中添加 Gln 可以提高幼建鲤肠道、血清和肝脏的抗氧化能力。夏晶[19]在中华鳖感染嗜水气单胞菌的试验中得出，Gln 可显著降低血浆 MDA 含量。

本试验中，AKG、OKG、2Na-AKG 组肝脏和肠道 MDA 含量显著低于对照组，这与刘坚等[15]在断奶仔猪上的研究结果相似，但这 3 组对肝脏和肠道 SOD 活性、GSH 含量影响不显著，说明 AKG 可能不是通过调控 SOD 活性和 GSH 含量来影响机体抗氧化能力，还存在其他调控机制。AKG 参与其他非酶系统氧化脱羧作用促进过氧化氢的分解，并且在三羧酸循环途径中作为中间物质，可利用和转化氨，降低氨中毒程度，为机体提供额外的 ATP，提高机体代谢能力，抑制氧自由基的生成，从而阻止脂质过氧化[20-21]。另外，Gln 和 Glu 组肝脏 SOD 活性显著高于对照组，MDA 含量显著低于对照组，而 GSH 含量则与对照组无显著差异；肠道中，Gln 组 SOD 活性和 GSH 含量均显著高于对照组，且 Glu 组只有 SOD 活性与对照组存在显著差异，这与陈瑾[14]在建鲤肠上皮细胞上的试验结果相似，但这 2 组的 MDA 含量与对照组相比差异均不显著；在血清抗氧化能力方面，虽然 OKG 组以及 2Na-AKG 组 SOD 活性和 GSH 含量均显著高于对照组，但各组间 MDA 含量差异均不显著。这与张军民等[21]在早期断奶仔猪上的研究存在差异，可能鱼类和哺乳动物抗氧化调控机制有所差异，在机体抗氧化系统中可能存在某种平衡机制，用以维持机体正常功能。这种平衡机制还有待于进一步研究。

3.2　Gln 及其前体物对松浦镜鲤血清生化指标的影响

血液中存储着机体的健康信息，生物体的生理变化和病理变化往往会引起血液成分的改变，其生化指标可作为机体疾病诊断的依据。血液中含有各种营养成分，包括蛋白质、脂质、糖类三大营养物质，并且兼具运输、体液调节、内环境稳态以及防御等功能。血液中的蛋白质具有维持胶体渗透压、免疫、运输、修补组织和缓冲等作用，能够反映机体代谢水平、免疫能力、蛋白质合成以及氮沉积等情况[22]，血清中 TP、ALB 和 GLB 含量能够反映机体蛋白质代谢和吸收情况，GLB 含量在一定程度上可以反映机体免疫水平，而血清 UN 含量在一定程度上可以反映机体蛋白质代谢状况[23-25]。本试验结果表明，Gln、Glu、AKG 组的血

清 TP 和 GLB 含量显著高于其他各组，各组血清 UN 含量虽无显著差异，但各试验组相较于对照组都有所下降。上述结果说明 Gln、Glu、AKG 的添加提高了机体对蛋白质的利用率以及免疫能力，这与朱青等[26]在鲟鱼和魏玉强等[12]在松浦镜鲤上的研究结果一致。

ALT 和 AST 作为动物体内重要的转氨酶，广泛存在于动物的线粒体中，在机体蛋白质代谢中起重要作用，而其活性变化也是反映肝脏受损伤的最敏感指标，正常情况下，动物血清中转氨酶活性较低，当肝细胞受损时，ALT 和 AST 便进入血液，导致 ALT 和 AST 活性升高[27-28]。本试验结果表明，AAKG 组血清 ALT 活性以及 OKG 和 2Na-AKG 组血清 AST 活性显著高于对照组，而 Gln、Glu 和 AKG 组血清 ALT 活性则较对照组有所降低，且 AKG 组血清 AST 活性显著低于其他各组。这说明 AKG 的添加可有效地保护肝细胞。血清 TCHO 和 TG 含量可一定程度反映体内脂肪酸代谢水平。本试验结果表明，血清 TCHO 含量各组间无显著差异，AAKG 组 TG 含量显著低于对照组，说明 AAKG 有助于机体脂肪酸的利用。血清葡萄糖含量升高会引起机体一系列不良反应，其含量一般随着饲料糖水平的升高而升高，而鱼类缺乏对血清葡萄糖含量的调控能力，被认为是先天性的糖尿病患者[29-30]。本试验结果表明，AKG 组血清葡萄糖含量显著低于对照组，且其他各组相较于对照组均有所降低，这种结果可能与几种添加物在机体内供能有关，而 AKG 效果更明显更直接。

4 结　论

① Gln 及其前体物均对松浦镜鲤的组织抗氧化能力产生了一定的影响，从对机体脂质过氧化物质的清除能力看，Glu、AKG、OKG、2Na-AKG 的效果较好。

② Gln 及其前体物均对松浦镜鲤的血清生化指标均产生了一定影响，从蛋白质利用和机体免疫方面看，Gln、Glu 和 AKG 表现较佳，同时 AKG 还可显著降低血清葡萄糖含量。

参考文献：

[1] WU G,KNABE D A,FLYNN N E.Synthesis of citrulline from glutamine in pig enterocytes[J].The Biochemical Journal,1994,299(Pt 1):115–121.

[2] KREBS H A,BAVEREL G,LUND P.Effect of bicarbonate on glutamine metabolism[J].The International Journal of Biochemistry,1980,12(1/2):69–73.

[3] NEWSHOLME E A,CARRIÉ A L.Quantitative aspects of glucose and glutamine metabolism by intestinal cells[J].Gut,1994,35(1 Suppl.):S13-S17.

[4] 白由元,于明琨,刘震洋.谷氨酰胺与肠道免疫调节作用[J].中国临床康复,2006,10(4):153–155.
[5] LIN Y,ZHOU X Q.Dietary glutamine supplementation improves structure and function of intestine of juvenile Jian carp (*Cyprinus carpio* var. Jian)[J].Aquaculture,2006,256(1/2/3/4):389–394.
[6] CHEN J,ZHOU X Q,FENG L,et al.Effects of glutamine on hydrogen peroxide-induced oxidative damage in intestinal epithelial cells of Jian carp (*Cyprinus carpio* var.Jian)[J].Aquaculture,2009,288(3/4):285–289.
[7] 徐奇友,王常安,许红,等.外源性谷氨酰胺对虹鳟稚鱼生长和肠道形态的影响[J].中国粮油学报,2009,24(4):98–102.
[8] BRITO G A C,CARNEIRO-FILHO B A,ORIÁ R B,et al.Clostridium difficile toxin A induces intestinal epithelial cell apoptosis and damage:role of Gln and Ala-Gln in toxin A effects[J].Digestive Diseases and Sciences,2005,50(7):1271–1278.
[9] KIM S J, KOO O J,KWON D K,et al.Replacement of glutamine with the dipeptide derivative alanyl-glutamine enhances *in vitro* maturation of porcine oocytes and development of embryos[J].Zygote,2013,22(2):186–289.
[10] 李晋南,徐奇友,位莹莹,等.谷氨酰胺及其前体物对松浦镜鲤生长性能、体成分和血清生化指标的影响[J].东北农业大学学报,2013,44(12):119–125.
[11] 李晋南,徐奇友,王常安,等.谷氨酰胺及其前体物对松浦镜鲤肠道消化酶活性及肠道形态的影响[J].动物营养学报,2014,26(5):1347–1352.
[12] 魏玉强,徐奇友,位莹莹,等.不同蛋白源饲料中添加α-酮戊二酸对松浦镜鲤肌肉成分、血清氨基酸和生化指标的影响[J].东北农业大学学报,2015,46(1):94–100.
[13] 陈瑾,周小秋,冯琳.谷氨酰胺对动物肠道抗氧化能力的影响[J].饲料工业,2009,30(2):55–57.
[14] 陈瑾.谷氨酰胺对鲤鱼肠上皮细胞抗氧化能力的影响[D].硕士学位论文.雅安:四川农业大学,2008.
[15] 刘坚,侯永清,丁斌鹰,等.α-酮戊二酸对脂多糖应激断奶仔猪空肠黏膜蛋白合成和抗氧化

能力的影响[J].营养饲料,2010,46(11):35–38.
[16] 曹锡清.脂质过氧化对细胞与机体的作用[J].生物化学与生物物理进展,1986(2):17–22,23.
[17] 程时,丁海勤.谷胱甘肽及其抗氧化作用今日谈[J].生理科学进展,2002,33(1):85–90.
[18] 李华涛.谷氨酰胺抗鲤鱼红细胞凋亡作用及作用机制研究[D].博士学位论文.雅安:四川农业大学,2013.
[19] 夏晶.Gln 对嗜水气单胞菌感染中华鳖的保护作用[D].硕士学位论文.雅安:四川农业大学,2012.
[20] VELVIZHI S,DAKSHAYANI K B,SUBRAMANIAN P.Effects of α-ketoglutarate on antioxidants and lipid peroxidation products in rats treated with ammonium acetate[J]. The Journal of Nutrition,2002,18(9):747–750.
[21] 张军民,王连递,高振川,等.日粮添加谷氨酰胺对早期断奶仔猪抗氧化能力的影响[J].畜牧兽医学报,2002,33(2):105–109.
[22] 黄冠庆,林红英.丙氨酰谷氨酰胺对断奶仔猪生长性能及血清生化指标的影响[J].中国农学通报,2009,25(2):9–12.
[23] 徐涛,王荣延.临床检验基础[M].北京:人民卫生出版社,1983:165–168.
[24] 褚武英,吴信,成嘉,等.低聚木糖对草鱼生长性能及血液生化指标的影响[J].饲料研究,2008(6):60–61.
[25] 王爱民,韩光明,封功能,等.饲料脂肪水平对吉富罗非鱼生产性能、营养物质消化及血液生化指标的影响[J].水生生物学报,2011,35(1):80–87.
[26] 朱青,许红,徐奇友,等.谷氨酰胺对幼鲟鱼血清、肝胰脏生化指标及体成分的影响[J].水产学杂志,2010,23(2):16–20.
[27] 陈玉春,顾雪飞,刘敏.5 种中草药对鲤血清谷丙转氨酶、谷草转氨酶及红细胞过氧化氢酶活性的影响[J].淡水渔业,2007,37(5):11–13.
[28] 惠天朝,施明华,朱荫湄.硒对罗非鱼慢性镉中毒肝抗氧化酶及转氨酶的影响[J].中国兽医学报,2000,20(3):264–266.
[29] WILSON R P,POE W E.Apparent inability of channel catfish to utilize dietary mono- and

disaccharides as energy sources[J].The Journal of Nutrition,1987,117(2):280–285.

[30] BRAUGE C,CORRAZE G,MÉDALE F.Effect of dietary levels of lipid and carbohydrate on growth performance,body composition,nitrogen excretion and plasma glucose levels in rainbow trout reared at 8 or 18 ℃ [J].Reproduction Nutrition Development,1995,35(3):277–290.

Effects of Glutamine and Its Precursors on Tissue Antioxidant Capacity and Serum Biochemical Indices of *Songpu* Mirror Carp

SONG Fangjie[1,2] WANG Liansheng[2] XU Qiyou[2*]

（1. *Wuxi Fisheries College, Nanjing Agricultural University, Wuxi* 214182, *China*; 2. *Heilongjiang River Fisheries Research Institute, Chinese Academy of Fishery Sciences, Harbin* 150070, *China*）

Abstract: This experiment was conducted to study the effects of glutamine (Gln) and glutamine precursors on tissue antioxidant capacity and serum biochemical indices of *Songpu* mirror carp. A total of 1 050 *Songpu* mirror carp with an average body weight of (40.27±3.96) g were randomly selected and divided into 7 groups with 5 replicates per group, and 30 fish in each replicate. The fish in those groups were fed 7 isonitrogenous and isocaloric diets with 1.5% glucose (control), glutamine (Gln), glutamate (Glu), alpha-ketoglutarate (AKG), ornithine-alpha-ketoglutarate (OKG), arginine-alpha-ketoglutarate (AAKG) and sodium alpha-ketoglutarate dibasic (2Na-AKG), respectively. The feeding trial lasted for 8 weeks. The results showed as follows: the superoxide dismutase (SOD) activity of the Gln and Glu groups was significantly higher than that of control group ($P<0.05$), the content of GSH of the Gln group was significantly higher than that of control group ($P<0.05$), the content of malondialdehyde (MDA) of the Glu, AKG, OKG and 2Na-AKG groups was significantly lower than that of control group ($P<0.05$) in intestine; the SOD activity of the Gln and Glu groups was significantly higher than that of other groups ($P<0.05$), the content of glutathione (GSH) had no significant difference among the groups ($P>0.05$), the

*Corresponding author, professor, E-mail: xuqiyou@sina.com (责任编辑 菅景颖)

content of MDA of the Gln, Glu, AKG, 2Na-AKG and OKG groups was significantly lower than that of control group ($P<0.05$) in liver; the SOD activity of the OKG and 2Na-AKG groups was significantly higher than that of control group ($P<0.05$), the content of GSH of the 2Na-AKG group was significantly lower than that of control group ($P<0.05$), the content of MDA had no significant difference among the groups ($P>0.05$) in serum. Compared with the control group, the serum TP content of the Gln, Glu and AKG groups was significantly increased ($P<0.05$), and that of 2Na-AKG group was significantly decreased ($P<0.05$); the serum alanine transarninase (ALT) activity of the AAKG group was significantly increased ($P<0.05$), the serum aspartate aminotransferase (AST) activity of the OKG and 2Na-AKG groups was significantly increased ($P<0.05$) and that of the AKG group was significantly decreased ($P<0.05$); the serum total cholesterol (CHO) content of the AAKG group was significantly decreased ($P<0.05$); the serum glucose content of the AKG group was significantly decreased ($P<0.05$). In conclusion, Gln and its precursors have some effect on tissue antioxidant capacity, and AKG, OKG, 2Na-AKG are better than others on removal of lipid peroxidation products; Gln, Glu and AKG can improve the protein utilization and immunity, moreover, AKG can significantly reduce the blood glucose content.

Key words: *Songpu* mirror carp; glutamine; precursor; antioxidant capacity; serum biochemical indices